⑩日本国特許庁(JP)

⑩特許出願公表

⑫ 公 表 特 許 公 報 (A)

平5-505459

母公表 平成5年(1993)8月12日

@Int. Cl. *

識別配号

庁内整理番号

審 査 請 求 未請求 予備審査請求 有

部門(区分) 6(1)

G 01 N 27/327

7235-2 J 7235-2 J

G 01 N 27/30

353 R 353 Z*

(全 18 頁)

会発明の名称

新規パイオセンサーおよびその使用方法

頤 平3-502803 倒特

❸②出 颐 平2(1990)12月14日

多翻訳文提出日 平 4 (1992) 6 月 12 日

❸国際出願 PCT/US90/07374

囫国際公開番号 WO91/09139 **匈国際公開日 平3(1991)6月27日**

優先権主張

愛1989年12月15日愛米區(US)愈451.671

@発 明 者 ガーバー, マーチン・テイー

アメリカ合衆国46032インデイアナ州、カーメル、ネベル・レイン9

69#

の出 願 人 ペーリンガー・マンハイム・コ **. ーポレイション**

アメリカ合衆国46250-0528インデイアナ州、インディアナポリ

ス、ピー・オー・ポックス50528 (番地の表示なし)

60代理人

弁理士 青 山 外1名 存

和指定 国

AT(広域特許), AU, BE(広域特許), CA, CH(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域 特許),FR(広域特許),GB(広域特許),GR(広域特許),IT(広域特許),JP,KR,LU(広域特許),N L(広域特許),SE(広域特許)

最終頁に続く

請求の範囲

1. a. 第1 電気絶縁体:

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上に支持

されている実質的に同一の大きさの作用電極および対電様:

c. 第1個気絶縁体および電径に上塗りし、かつ作用電径および

対電径の実質的に等しい表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶

緑体:ならびに

d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ

酸化還元メディエーターの酸化型、酵素および緩衝液からなる試薬

からなり、

族酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化

運元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1億の電子

を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ

て生じる電流を作用電棒表面での酸化量元メディエーターの源元型

の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

族酵素が酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を

含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

接続面液が酸化理元メディエーターの理元型よりも高い酸化電位

を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化

型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ

イプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

2. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させ

るのに充分なタイプおよび充分な量の微鉄品件物質からなる請求項

1記載の鉄屋。

3. 試裏がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらな

る酸化還元メディエーターからなる請求項1記載の装置。

4. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、

銀、チタン、銅、および炭素からなる群から選択される請求項1記

載の装置。

- 5. 試薬がさらに、分析物を含有する試料を温潤させるのに充分

なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項2記載の装置。

8. 試塞がさらに、試慮を安定させるのに充分なタイプおよび充

特表平5-505459 (2)

分な豊の試薬安定剤からなる請求項5記載の装置。

- 7. 分折物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの機化 型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダー ぜである請求項1記載の装置。
- 8. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化 亞がヘキサシアノ鉄(山)酸塩であり、酢素がグルコースオキシダー ぜである請求項2記載の装置。
- 9. ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩の量が試業19当たり約0.55~約 3.5ミリモルである請求項8記載の装置。
- 10. 分折物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸 化型がヘキサシアノ鉄(皿)鼓塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 数結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルポキシメチ ルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面 活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、 アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから なる群から選択される請求項6記載の装置。
 - 2) 試異19当たりリン酸塩級衝液約1,3~約1,9ミリモ
 - 3)は菓1g当たりグルコースオキシダーゼ約2300~約 10.400単位、
 - 4) 試業19当たり微結晶性セルロース約50~約71 xg、
 - 5) 試業 19当たり微結晶性カルポキシメチルセルロース約 2~约329、
 - 6) 試験1g当たりTRITON X-100約2~約3 ag、 および
- 7) 試戴 1 9当たりグルタミン酸塩約 7 1 ~約 1 0 2 89 からなる状態

からなることを特徴とするグルコース分析装置。

13. きらに、

e. 作用電極および対電優と電気的に連結され、作用電極の表面 で蒙化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるの に充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる 露するさらなる切欠部を含み、装置がさらに、

11.ヘキサシアノ鉄(四)酸塩の量が試薬1g当たり約0.55~ 約3.5ミリモルであり、リン酸精嚢研修の量易均減51**4当5:9** 約0. 35~約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試業19当たり 約36~約228年9であり、グルコースオキシダーゼの量が試製1 9当たり約570単位よりも多く、界面活性剤の量が試業19当たり 約0~約18mgであり、試薬安定剤の量が試薬1g当たり約0~約 200歳9である請求項10記載の装置。

12. a. 第1電気絶縁体:

- b. パラジウムから作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される 実質的に同一の大きさの作用電極および対電極;
- c. 第1写気絶縁体および電径に上塗りし、かつ作用電径および 対電極の実質的に等しい表面積を暴露する切欠部を含む第2重気絶 経体:ならびに
- d. 切欠部において暴露される電径表面を実質的に被覆し、かつ
 - 1) 試薬 19当たりヘキサシアノ鉄(皿)酸塩約1.1~約1. 5ミリモル.

電源:ならびに

1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電 流を測定することができる計量器 からなる請求項1貯蔵の装置。

14. きらに、

- e. 作用電径および対電径と電気的に連結され、作用電径の表面 で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるの に充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる 電源:ならびに
- 1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電 流を測定することができる計量器

からなる技文項で記載の装置。

1.5、第2電気絶縁体がさらに作用電径および対電径の一部を基

- 特表平5-505459 (3)
- 7、 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、
 - 接護衝液が酸化還元メディエ 特技中 考元型よび 与商い数分 電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な貴である
 - ことを特徴とする、作用電極および対電極を育し、かつ分析物を劇 定する電気化学的装置のための試業。
 - 17. 試度がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディエーターからなる請求項18記載の試賞。
 - 18. さらに、試集中で酸化還元メディエーターを分散させるの に充分なタイプおよび充分な量の兼結晶性物質からなる請求項16 記載の試象。
 - 19. まらに、分析物含有試料を湿潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の異面活性剤からなる建来項18記載の試施。
 - 20. さらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項19記載の試薬。
 - b. 試薬 1g当たりリン酸塩緩衝液約1.3~約1.9ミリモル、
 - c. 試薬 1 9当たりグルコースオキンダーゼ約2300~約10. 400単位:
 - d. 紅葉 19当たり微結晶性セルロース約50~約71 ag;
 - e. 試裏 1 9当たり微結晶性カルボキシメチルセルロース約 2 ~ 約 3 mg :
 - f. 試薬 1 9当たりTRITON X 1 0 0 約 2 ~ 約 3 x9 ; および
 - 8. 試業 19当たりグルタミン酸塩約71~約102 mg からなることを特徴とする、作用電極および対電便を有し、かつグ ルコースを測定する電気化学的装置のための試施。
 - 2.4. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を被覆し、かつ酸化運元メディエーターの酸化型、酵素、および綾筋液を含む試薬と液体を接触させ
 - [ここで、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個

- c. さらなる切欠部で作用電極および対電極と電気的に連結され、
 かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散(内)定
 電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電機関に供
 給することができる電車:ならびに
- 1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化運元メディエーターの運元型の酸化によって生じる拡散限定電 流を測定することができる計量器
- ._-

からなる請求項12記載の装置。

16.酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなり、

該酸化理元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化 理元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子 を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化違元メディエーターの還元型 の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

鎮酵素が酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型

- 2 1. 分析物がグルコースであり、酸化運元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 数結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項20記載の試業。
- 22. ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩の量が試菓1g当たり約0.55~ 約3.5ミリモルであり、リン酸塩級面液の量が試菓1g当たり約0. 35~約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試菓1g当たり 約36~約228 mgであり、グルコースオキシダーゼの量が試菓1 g当たり約570単位より多く、界面活性剤の量が試菓1g当たり約 0~約18 mgであり、試菓安定剤の量が試業1g当たり約0~約2
- 23. a. 試裏 19当たりへキサシアノ鉄(II)酸塩約1.1~約1. 5 l リモル:

の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化 によって生じた電波を作用電極表面での酸化還元メディェータ(4)の 還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液は酸化速元メディェーターの運元型よりも高い酸化電位 を有し、かつ酵素、分析物、および酸化速元メディェーターの酸化 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量である〕:

- b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ:
- c. 次いで、作用電便の表面で酸化還元メディエーターの還元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;
- d. その後、生じる拡散限定電液を測定し;
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

なる群から選択される請求項27記載の方法。

29. ヘキサシアノ狭(皿)酸塩の量が試異1g当たり約0.55~約3.5ミリモルであり、リン酸塩級面液の量が試集1g当たり約0.35~約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試業1g当たり約3.6~約2.28 agであり、グルコースオキシダーゼの量が試業1g当たり約5.70単位より多く、界面活性剤の量が試業1g当たり約0~約1.8 agであり、試業安定剤の量が試業1g当たり約0~約2.00 agである請求項2.8 記載の試象。

30. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を被置し、かつ

試棄 1 9当たりヘキサシアノ鉄(皿)酸塩約 1.1~約 1.5 ミリモル

試験19当たりリン酸塩緩衝液約1.3~約1.9ミリモル、 試験19当たりグルコースオキシダーゼ約2300~約10.

試菓 1 9当たり微結晶性セルロース約50~約7 1 ag、

特表平5-505459(4)

25. 試象がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディエーターを**お送**事取録2-4月で取りがある。

2 6. 試裏がさらに、試集中で酸化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の数結晶性物質を含む請求項 2 4 記載の方法。

27、試棄がさらに、

試案との接触によって液体を浸漉させるのに充分なタイプおよび . 充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試象安定剤 を含む請求項26記載の方法。

28. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(面)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 酸結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメテルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、雰面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試蔵安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから

試典 1 9当たり微結晶性カルボキシメチルセルロース約2~ 約3 ag、および

試業19当たりグルタミン酸塩約71~約10229 を含む試験と液体を接触させ:

- b. 酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応を示了ませ、
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化速元メディエーターの還元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を測定し:
- e. 液体中のグルコースの濃度を電流測定値に関連させる 工程からなることを特徴とする液体中のグルコース濃度測定方法。
- 31. a. 第1電気絶縁体;
- b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一の大きさの作用電極および対電径:
- c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極および 対電極の実質的に等しい表面限を暴露する切欠部を含む第2電気絶

特表平5-505459(5)

緑体:および

d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、(5)の 酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液からなる試 裏からなり、

接酸化理元メディエーターの還元型が辟業、分析物、および酸化 還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子 を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気還元によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型 の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該銀衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位 を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触線するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析用装置。

32、試塞がさらに、

うなり、

接触化運元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化 還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子 を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型 の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

抜群素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

接続衝波が酸化還元メディェーターの酸化型よりも低い還元電位 を育し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディェーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量である

ことを特徴とする、作用電便および対電極を有し、かつ分析物を測定する電気化学的装置のための試賞。

35. きらに、

試料中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ

は裏中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の微結晶性物質特表平5-505459 分析物含有試料を温潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の

試量を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試機安定剤 からなる請求項31記載の装置。

33. きらに、

界面活性剤、および

- c. 作用電極および対電極と電気的に連結され、作用電極の表面 で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じるの に充分な電位差を作用電極および対電機関に供給することができる 電源: ならびに
- (・作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる拡散限定電 流を測定することができる計量器 からなる請求項31記載の接管。
 - 34.酸化理元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液が

および充分な量の敬結晶性物質:

分析物含有試料を湿潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の 界面活性剤:および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤 からなる請求項34記載の試薬。

36. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面限を被覆 し、かつ酸化運元メディエーターの運元型、酵素、および緩衝液を 含む試器と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該群衆は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

鉄緩而液は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い違元電位

を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分な(音)
イブおよび充分な量である];

- b. 鎮酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を 含む反応を奈丁させ:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型 の拡散限定電気還元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;
 - d. その後、生じる拡散限定電流を測定し;
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる 工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。
 - 37. 試裏がさらに、

試集中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を混高させるのに充分なタイプおよび充分な量の 界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤

含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該提衝液が酸化速元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位 を育し、かつ酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

- 39. 試裏がさらに、試棄中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質からなる請求項38記載の装置。
- 40. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターからなる請求項38記載の装置。
- 4.1. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、服、チタン、銅、および炭素からなる群から選択される請求項3.8 記載の装置。
- 42. 試策がさらに、分析物含有試料を混濶させるのに充分なタ イプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項39記載の装置。
 - 43.試菓がさらに、試菓を安定化させるのに充分なタイプおよ

を含む請求項36記載の方法。

- 38. a. 第1電気絶縁体: 特表平5-505459
- b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持 されている作用電極および旅作用電極よりも小さい対電極:
- c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、作用電極よりも小さい対電極の表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体:および
- d. 切欠部において暴露された電極表面を実質的に被覆し、かつ 酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなる試 業

からなり、

接触化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化 還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子 を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型 の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物および酸化運元メディエーターの酸化型を

び充分な量の試裏安定剤からなる請求項42記載の装置。

- 4.4.分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸 化型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである調求項3.8.記載の装置。
- 45. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサンアノ鉄(皿)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項39記載の装置。
- 46.分行物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキンダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試菓安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から通択される請求項43記載の装置。

47. さらに、

e. 作用電径および対電径と電気的に連結され、かつ作用電極の

特表平5-505459 (7)

表面で酸化還元メディェーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位型を作用電極および対電極間に供給すること(事)できる電景:および

1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、かつ作用電極表面 での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限 定電流を副定することができる計量器

からなる請求項38記載の装置。

48.a.作用電極よりも小さい対電極の表面積を被覆し、かつ 酸化環元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液を含む試賞 と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

抜酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型

4 8 記載の方法。

51. 試薬がさらに、

試業との接触によって液体を湿潤させるのに充分なタイプおよび 充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤 を含む請求項50記載の方法。

52.分析物がグルコースであり、酸化還元メディェーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、機結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメテルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試菓安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される精水項51記載の方法。

53. a. 第1驾気絶縁体:

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される作用電極および旅作用電極よりも小さい対電極;

を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

- b. 該酵素、分析物、および酸化温元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ;
- c. 次いで、作用電径の表面で酸化運デメディェーターの運元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電径間に印加し:
 - d. その後、生じる拡散限定電流を測定し:
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる 工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。
- 49. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディエーターを含む請求項48記載の方法。
- 50. 試棄がさらに、試棄中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の数数品性物質を含む請求項
- c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極よりも 小さい対電極の表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体;お
- d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ 酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液からなる試 素からなり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元型メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該機衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位 を育し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ

特表平5-505459 (8)

イブおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

54、鼠塞がさらに、

(8)

試費中で酸化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の数結晶性物質、

分析物含有試料を混満させるのに充分なタイプおよび充分な量の 雰面活体剤、および

試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試験安定剤 からなる請求項53記載の装置。

55. きらに、

- e. 作用電極および対電極と電気的に連結され、かつ作用電極の 表面で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じ るのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することがで きる電量: および
- f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる拡散限定電 液を測定することができる計量器

含む反応を完了させ:

- c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型 の拡散限定電気運元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を副定し:
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる 工程からなる液体中の分析物濃度測定方法。

57、試薬がさらに、

試棄中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の微結晶性物質、

試験と接触させることによって液体を混濁させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試料を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試業安定剤 からなる請求項5.6 記載の方法。 からなる請求項53記載の装置。

56. a. 作用電優よりも小さ特 表電視で表電視を放揮 5、9かつ 酸化還元メディエーターの還元型、辟索、および緩衝液を含む試業 と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気還元によって生じる電流を作用電低表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分な量であり、

譲級衝液は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位 を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し機持するのに充分なタ イプおよび充分な量である】:

b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を

朝 細 書

新規パイオセンサーおよびその使用方法

関連出額相互参照

本出額は1989年12月15日に出顧した米国特許出願第07 /451.671号の一部継続である。

発明の分野

本発明は、一般に、液中の分析物濃度測定に関し、さらに詳細には、このような測定に使用するための電流満定パイオセンサーに関する。

発明の背景

パイオセンサーは断しくない。液中の種々の分析物の濃度の耐定におけるそれらの使用も知られている。

ナンカイら(Nankai et al.) (1988年12月31日に公開されたWO86/07632) は、グルコース含有液をグルコースオキンダーゼおよびヘキサンアノ鉄(皿)酸カリウムと接触させる電流

適定パイオセンサーシステムを開示している。グルコースを酸化し、 ヘキサシアノ鉄(□)酸塩をヘキサシアノ鉄(□)酸塩に還元する (S)C の反応はグルコースオキシダーゼによって触媒される。) 2分後、 電位を印加し、ヘキサシアノ鉄(□)酸塩からヘキサシアノ鉄(□)酸 塩への再酸化によって生じる電流を得る。 抜電位を印加して飲砂後 に得られる電流値は彼中のグルコースの適度と関連する。

ナンカイらが電位の印加前にグルコースおよびへキサシアノ鉄 (III)酸塩の反応を完全に行う方法を開示しているので、この方法を 電流滴定測定の「終点」法と称する。

ナンカイらはグルコースオキシダーゼおよびヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムを不穏ナイロンメッシュ上に保持するシステムを開示している。該メッシュは作用電極、対電極および参照電極と接触するように配置される。対電極および参照電極の合計表面積は作用電極の2倍である。

ウォゴマン(<u>Wosoman</u>)(1986年12月30日に公開されたE P0206218)は、異なる導電性物質から作られる2つの電極

対電極が作用電極より長い二電極システム。

電気化学技術分野における従来の設者は、パイオセンサーが、作用電極および対電極が実質的に同一の大きさであり(または対電極が作用電極よりも小さく)、同一の導電性物質から作られる二電極システムを含み得ることを提案していない。

発明の概要

本発明は、新規バイオセンサー(電気化学的装置)およびその使用 方法である。該バイオセンサーは、同一の導電性物質から作られ、 かつ第1電気絶縁体に貼付された実質的に同一の大きさの作用電便 および対電極を含む。作用電極および対電極の実質的に等しい表面 機を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体を電極に上塗りする。

試業は該切欠部に添加される。該試費は切欠部において暴露される電優表面を実質的に被覆し、酸化速元メディエーター、酵素および暖衝液を含む。

分析物含有試料を該試業に添加すると、酸化還元メディエーターは還元される(少なくとも1個の電子を受容する)かまたは酸化され

特表平5-505459 (9)

を有するパイオセンサーを関示している。例えば、陽極は白金のような陽極材料から形成され、**は特点部の5.ナ点球を料料が**分形成される。隔極は群衆で塗布される。好ましい具体例において、塗布された戦極はグルコースを浸透することができるエラストマーで被使されている。

ポットゲンら(Pottgen et al.) (1989年9月21日に公開 ・ されたWO89/08713) は、電極が同一の貴金属から作られ るが、該電極の一方(疑参照電極と称する)が他方(作用)電極よりも 長い二電極パイオセンサーの使用を開示している。

電気化学技術分野における従来の厳者は以下のタイプのバイオセンサーを提客している:

- 1)作用電極が参照電極(例えば、銀/塩化銀)に対して照合され、 対電極が電流の流れのための手段を提供する三電極システム:
- 2) 作用電極および対電極が異なる導電性物質から作られる二電 便システム: ならびに
 - 3)作用電極および対電極が同一の導電性物質から作られるが、

る(少なくとも1個の電子を供与する)かいずれかである反応において分析物、酵素および酸化還元メが沈殿する。通常、この反応において、分析物は酸化され、酸化還元メディェーターは還元される。この反応(ここで、分析物が酸化され、酸化還元メディェーターが還元される)が終了した後、該電極間に電位差が印加される。対電極での酸化還元メディェーターの酸化型の量および印加された電位差は作用電極の表面で酸化還元メディェーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければならない。短時間遅延の後、酸化還元メディェーターの還元型の電気酸化によって生じる電流を測定し、観察された電流は試料中の分析物の量と関連される。

試票が、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって、電気酸化中に生じる電流を確実に限定するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの2つの電極だけが必要であるのが重要である。

作用電極表面での酸化還元メディエーターの選元型の酸化によっ

て限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は常に作用電極の表面(の)の酸化還元メディエーターの違元型の量を超えなければなっない。

図面の簡単な説明

第1図は試費およびメッシュ被覆を除く本発明パイオセンサーの 好ましい具体例の略平面図である。

第2図は試裏およびメッシュ被覆を含む第1図の線2-2に沿った本発明のパイオセンサーの略正面図である。

第3図はメッシュ被覆を含む本発明のパイオセンサーの好ましい 具体例の略平面図である。

発明の詳細な説明

第1図〜第3図をきらに詳細に引用して、本発明のパイオセンサーの現在の钎ましい具体例を示す。

バイオセンサー1は第1および第2電気絶縁層2および3からなる。いずれの有用な絶縁材料も適切であろう。典型的には、ビニルポリマーおよびポリイミドのようなプラスチックが望ましい電気的

費金属よりも空気酸化され易いので好ましくない。好ましくは、電 怪4 および5は厚さ約0.1 ミクロンであり、基材7は厚さ約25 ミクロンである [コータルズーアンダス・パーフォーマンス・フィ ルムズ・イン・カリフォルニア・アンド・サウスウォール・テクノ ロジィズ,インコーポレイテッド(Courtalls-Andus Perforance Files in California and Southwall Technologies, Inc.)か ら商業的に入手可能](第2図)。

電便 4 および 5 は一方の電便での電気化学的事象が他方の電優での電気化学的事象を妨害しないように充分に難されなければならない。電便 4 および 5 の間の好ましい距離は約 1.2 ミリメーター(ax)である。

好ましい具体例において、基材でに貼付された電極4および5は リールから繰り出されず、無溶融接着剤(示されていない)の使用に よって暦2に付着される。また、電極4および5は平行に配置され て暦2の一方の嬬部から他の嬬部まで伸びているのが好ましい(第 1 図)。 および構造的特性を提供する。

第1図~第3図に示すバイオ 特表 平ち - 15 0 を 45 9関して充分に可挽性であり、かつ同時に、最終バイオセンサーに有用な関きを与えるのに充分に関い材料の選択を必要とする材料のロールから製造される塊であることが意図される。

層 2 および 3 はいずれの有用な厚さであってもよい。好ましい具体例において、層 2 は厚さ約 3 6 0 ミクロンであり、層 3 は厚さ約 2 5 0 ミクロンである。

作用電便4 および対電便5 は好ましくはポリイミドのような絶縁 材料の基材7上に配置され、層2 に貼付される前に電極を引き裂く 可能性を低下させる。作用電極4 および対電極5 は実質的に同一の 大きさであり、関一の導電性物質から作られる。使用し得る導電性 物質の例は、パラジウム、白金、金、銀、炭素、チタン、および飼 である。食金属は、より一定の再現可能な電優表面積を提供するの で好ましい。パラジウムは、より酸化しにくい食金属の1つであり、 かつ相対的に安価な黄金属であるので好ましい。銀は、上記の他の

絶縁層3は熱溶融接着剤(示されていない)の使用によって層2な うびに電極4 および5の上部に固着される。層3は、試薬ウェル9 を定義し、かつ電極4 および5の実質的に等しい表面積10を暴露 する切欠部8を含む。

好ましい具体例において、切欠部8は4mm×6mmであり、電便4 および5は各々幅1.5mmである。したがって、2つの電極の各々 について表面積約6mmであ露露される。

また、パイオセンサー1は、作用電極および対電極と電気的に連結している電源(示されていない)ならびに作用電極および対電極と電気的に連結している電流計(示されていない)も会む。

パイオセンサー試業 1 1 (第 2 図)は 電極 4 および 5 の暴露表面 1 0 の実質的に全てを被獲するように、好ましくは該電極間の層 2 の 暴露表面を被覆するようにウェル 9 中に配置される。

最小限、試験11は酸化運元メディエーターの酸化型、酵素および緩衝液を含む。 旋酸化運元メディエーターの酸化型は、酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応から少な

くとも1個の電子を受容するのに充分なタイプのものでなければなっない。 (酸化還元メディエーターなる語は電気化学的可逆的物化 一運元反応を受けることができるメディエーターを意味する。) 該 酵素は酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を含む 反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量でなければなっない。 該級衝波は、酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸 化型を含む反応を該酵素が触媒するpHを提供し、維持するのに充 分なタイプのものおよび充分な量でなければならない。

一般的に、分析物含有試料を試験に添加すると、以下に示すとおり該分析物が酸化され、該酸化量元メディエーターの酸化型が還元される:

分析物 + 酸化運元メディエーター 呼素 (運元型) (酸化型)

分折物 + 酸化還元メディエーター (酸化型) (還元型)

上記反応は完了させられる。 [完了は、分析物濃度を作用電極の表面での酸化道元メディェーターの還元型の酸化によって生じる拡散

酸化速元メディエーターを使用することによって、および拡散限定 電気酸化中に生じる電流を作用電極での酸化速元メディエーターの 建元型の酸化によって確実に制限するのに充分な量の酸化速元メディ エーターの酸化型を拡張11に供給することによって満足される。 作用電極表面での酸化速元メディエーターの違元型の酸化によって 限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面で の酸化速元メディエーターの酸化型の量は、常に作用電極の表面で の酸化速元メディエーターの速元型の量を超えなければならない。

以下に記載するように、試棄が過剰の酸化還元メディェーターの酸化型を含む場合、作用電極および対電極は実質的に同一の大きさであってよく、かつ同一の導電性物質から作られてよい。実質的に同一の大きさであり、かつ同一材料から作られる電極の利用能はパイオセンサーを製造するために重要な長所を表す。

試養のさらなる必要条件は使用される緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を育しなければならないということである。

特表平5-505459 (11)

限定電流と関連させるのに充分な分析物、酵素、および酸化還元メ ディエーター(酸化型)を含む反特表でで、4.5.1050000年間した 後、電源(例えば、パッテリー)は電便間に電位差を印加する。電位 是を印加する場合、対電性での酸化還元メディエーターの酸化型の 量および電位差は作用電性表面での酸化還元メディエーターの還元 型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければならない。作用 電性表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じ る拡散限定電液を電流針によって測定する。

到定された電流は以下の必要条件が満足される場合に試料中の分析物の濃度に正確に関連され得る:

- 1)酸化還元メディエーターの還元型の酸化速度が作用電極の表面に対する酸化還元メディエーターの還元型の拡散速度によって左右される:および
- 2)生じた電流が作用電極の表面での酸化還元メディエーターの 還元型の酸化によって限定される。

本発明の装置において、これらの必要条件は、容易に可逆できる

使用される酵素のタイプは測定されるべき分析物に依存するであろう。例えば、グルコースが測定されるべき分析物であるならば、グルコースオキシダーゼが酵素として使用されてよい。コレステロールが測定されるべき分析物であるならば、コレステロールオキシダーゼが酵素として使用されてよい。

前記説明のように、酸化運元メディエーターは容易に可逆できなければならず、酸化運元メディエーターの酸化型は酵素、分析物および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプでなければならない。例えば、グルコースが副定されるべき分析物であり、グルコースオキシダーゼが酵素である場合、ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩またはキノンが酸化運元メディエーターの酸化型であってよい。

本発明によって個々の分析物を測定する際に使用してよい酵素および酸化還元メディエーター(酸化型)の他の例を下記第1表に示す。

特表平5-505459 (12)

第1表に示した例のいくつかにおいて、反応触媒として、少なくとも1つのさらなる酵素が使用を持定平 また。5部() 各項形-5字例のいくつかは、酸化理元メディエーターの酸化型への電子移動を促進するさらなるメディエーターを利用してよい。さらなるメディエーターは、酸化運元メディエーターの酸化型よりも少ない量で試棄に供給されてよい。

試集中に含まれる酵素の量は、分析物、酵素、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応の完了のための所望の時間に依存して変わり得る。酵素の添加量が多いほど反応の完了のための時間は短い。グルコース試業がグルコースオキンダーゼを含む場合、試薬中に試薬(電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する)1 2 当たり約0.5×10°国際単位(単位)を超えるグルコースオキンダーゼを使用すべきであり、好ましくは、試薬12当たり約2×10°単位のグルコースオキンダーゼを使用する。試薬12当たり約0.5×10°以下では、検定性能が劣る。試薬12当たり約2×10°単位のグルコースオキンダーゼは、反応についての評都合な短時間、約

2 0 秒以内で、グルコース、グルコースオキシダーゼおよびへキャシアノ鉄(皿)酸塩を含む反応の完了を達成するであろう試験を提供する。試験 1 2 当たり約 2 × 1 0 * 単位以上のグルコースオキシダーゼでは、球試集は製造するのに不必要により多くの費用がかかる。

(これらのグルコースオキシダーゼの量は電優表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

2, 8-7900-1, 4-47/4/7

27.

くキャケアン歌(田)製造、 レッナグンド・スタンドープ レッナグンド・スタンドープ フィナグンド・スタンドード くキャケアン歌(田)製造、

NATE FOゲナーゼおよび ジアホラーゼ

ジアホラーゼ

Lff ゲヒドロゲナーゼ

NMオキンダーボ

はたま

7+19/21/3474-F.

フェナジンメトスルフェート

ヘチャンアノ数(司)製造またはフェナジンメテスチンエー

りま型ロシスーは、 ゲリセロールチナーは、および ゲリセロールーの一リン製ホキングーゼ

くキャットン数(目)製造

tr to

コンステロールエステラーゼ、コレステロールオキシダーゼ

101.コレスチロール

~◆◆シアノ数(目)倒型

きらなるとだくエーター

第代選元メディエーター(操作型)

K

SET.

くキキケイン教(目)報為くキキケイン教(日)報過くキキケイン教(田)報告

BLE

コレスチロールドスチャーゼ、コレステロールオキングーゼ

743-29EFBY+-4, 1120

JA3-7

(12)

|-メトキシ…フェナジンメトスルフェート

フェニレンジナミン

743-4444-4-4 KJAKV4449-4

アチアン製キキングーボ

ドルアン製物

ピリルピン

14-641

~◆◆ ▽ ▼ / 一 | 数位

試案中の必要な酸化還元メディエーターの酸化型の育効量は測定 しようとする分析物の濃度範囲によって左右される。グルコース(ここに記載された)を分析するための試象は、容量約10~約70μg のヒト全血の試料中のグルコースレベルを測定するのに充分な酸化 還元メディエーター(酸化型)を含む。電極4および5の間に電位差 が印加される場合、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸 化型の量が作用電極での酸化還元メディエーターの適元型の量を超 えるように充分な酸化還元メディエーターの酸化型を該試異に供給 しなければならない。

酸化塩元メディエーター(酸化型)の量の上限は、通常、試薬中の

ノディエーターの溶解度および分散性に依存するであろう。グルコースアッセイ用バイオセンサーによって例示される本発明に関する 試薬は、好ましくは、試薬中に酸化還元メディエーターを分散させ るのに充分なタイプおよび充分な量の数結晶性物質を含む。

酸化還元メディエーターを分散させるであろう微結晶性物質の例は、微結晶性セルロース、デキストラン、およびキチンである。グルコースオキンダーゼおよびヘキサシアノ鉄(回)酸カリウムを含む好ましいグルコース試集中に含まれる微結晶性物質の量は、約1%(重量:容量)~約4.5%(重量:容量)、好ましくは約1.5%(量量:容量)である。微結晶性物質約1%(重量:容量)以下では、乾燥後、試業が電極表面から落ちるであろう。微結晶性物質約4.5%(重量:容量)以上では、試薬はゲル化する。ヘキサシアノ鉄(回)酸塩およびグルコースオキシダーゼを含むグルコース試薬について、好ましい微結晶性物質はAVICELRCー591F[エフェムシー・コーボレーション(FMC Corp.)から入手可能な微結晶性セルロース]およびNATROSOLー250 M[アクアロン

(A qualon)から入手可能な数結晶性カルボキシメチルセルロース]
である。試象中のA V 1 C E L の量は約1%~約4.2%(重量13)容量)の範囲であってよく、好ましくは約1.4%(重量:容量)である。
試験中のN A T R O S O L の量は約0%~約0.3%(重量:容量)
の範囲であってよく、好ましくは約0.06%(重量:容量)である。
(これらのパーセンテージは電極表面上で乾燥する前の試験組成物に関する。)

按試験にAVICELおよびNATROSOLを添加した場合、 上記範囲内で、該試業中に混合されてよいへキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カ リウムの量は、約0.15モル(M)~約0.7Mの範囲であってよく、 好ましくは約0.3Mである。ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩の濃度が0. 15M以下である場合および0.7M以上である場合は、パイオセ ンサーの性能は低下する。(これらのモル濃度は電極表面上で乾燥 する前の試業組成物に関する。)

また、試裏は測定されるべき分析物を含有する試料を混濶させる のに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤を含むのが好ましい。

酸、ピペラジンーN.Nービス(2ーエタンスルホン酸)、Nー(2ー
アセトアミド)ー 2ーアミノエタンスルホン酸、N.Nービス(2ー
ヒドロキシエチル)ー 2ーアミノエタンスルホン酸、N.Nービス(と
ドロキシメチル)ーメチルー2ーアミノエタンスルホン酸、および
Nー2ーヒドロキシエチルーピペラジンーNー2ーエタンスルホン酸、およびトリス緩衝液(2ーアミノー2(ヒドロキシメチル)ー1.
3ープロパンジオールから誘導された緩衝液)を含む。[「良」およびトリス緩衝液はシグマ・ケミカル・カンパニー(Signa Chemical Company)から入手可能である。] イミダゾールは緩衝液として使用するべきではない。これらの緩衝液は約4~約8の钎ましいpH 範囲を提供するのに使用され得る。最も钎ましいpH 範囲は約6~約7である。最も钎ましい緩衝液は約0.1 M~約0.5 M、钎ましくは約0.4 Mのリン酸塩(例えば、リン酸カリウム)である。(これらの濃度範囲は電径表面上で乾燥する前の試数組成物に関する。)

試異は、さらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分 な量の試象安定剤を含むのが好ましい。該試象安定剤は酵素を安定

特表平5-505459 (13)

例えば、グルコース含有ヒト全血は科分析用は農において、接界面活性剤はノニオン界面活性剤で特表が寄まられて観点の存在し得る。 学面活性剤的の光(重量:容量)~約0.3%(重量:容量)が存在し得る。 学面活性剤約0.3%(重量:容量)以上では、赤血球が溶血し始める。グルコース試験中の好ましい界面活性剤は好ましい濃度が約0.05%(重量:容量)のTRITON X-100[シグマ・ケミカル・コーポレーション(Signa Chemical Corporation)から人手可能]である。(これらのパーセンテージは電極表面上で乾燥する前の試験組成物に関する。)

酵素機能について適足なpHを提供し、かつ酸化還元メディェーターの還元型よりも高い酸化電位を育するという前記必要条件を適足するいずれの緩衝波も使用し得る。

酵素グルコースオキシダーゼを使用するグルコース試裏に関する...
このような緩衝液の例は、リン酸塩、クエン酸塩(クエン酸塩は試 薬を安定させるのを助ける)、「良」緩衝液(例えば、2-(N-モ ルホリノ)エタンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)イミド二酢

させ、グルコースオキンダーゼを含有するグルコース試数について は、技試薬安定剤はグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデ キストランおよびトレハロースからなる群から選択され得る。グル コースオキンダーゼを含有する試薬について好ましい試薬安定剤は 約0%(重量:容量)~約4%(重量:容量)の濃度範囲、好ましくは 約2%(重量:容量)の遺産のグルタミン酸塩(例えば、グルタミン 酸カリウム)である。(これらのパーセンテージは電優表面上で乾燥 する前の試薬組成物に関する。)

酵素グルコースオキシダーゼおよび酸化還元メディエーターの酸 化型としてヘキサシアノ鉄(皿)酸塩を使用する好ましいグルコース 試験を作成するプロトコルは以下のとおりである:

工程 1 ~ pH 6.25の水性リン酸カリウム緩衝液(一塩基性リン酸カリウム 8 0.062 pおよび二塩基性リン酸カリウム 2 6.423 pを含む)0.740 MにNATROSOL - 250 M 1.2000 pを添加することによって緩衝液/NATROSOL混合物1 gを(メスフラスコ中で)顕数する。3時間、NATROSOLを複件お

よび影流させる。

工程 2 - 20分間、AVICEL RC-591 F 14.(94)
00g および水504.7750gを撹拌することによってAVIC
E L 混合物を開製する。

工程3~ 綾断液/NATROSOL混合物514.6000gに TRITON X-100 0.5000gを添加することによってT RITON混合物を調製し、15分間技作する。

工程 4 - 撹拌しつつ、油下調斗またはビューレットを用いて合計 AVICEL混合物に合計TRITON混合物を適下する。添加件了後、一晩撹拌し続ける。

工程5- 授拝しつつ、工程4から得た混合物にヘキサシアノ鉄(皿)酸カリウム98.7750gを添加する。(ヘキサシアノ鉄(皿)酸カリウムを一度に少量ずつ加えて添加と同時にヘキサシアノ鉄(皿)酸カリウムを溶解させる。)

工程6~ 20分間、工程5の得られた混合物を撹拌する。

工程7- 水酸化カリウムを添加することによって、工程6から

鉄(皿)酸塩の運元を触媒する酵素(グルコースオキシダーゼ)も含有するであろう。

次いで、試菓11を約50℃で約3分間加無することによって乾燥する。乾燥によって試票の含水量の少なくとも約90%を除去し、この特果、以下の割合の成分を有する好ましい乾燥試棄が得られる:乾燥試棄19当たりへキサシアノ鉄(皿)酸塩約1.1~約1.5ミリモル:試農乾燥による酵素活性75%損失(異常に高い酵素活性損失)を仮定して乾燥試菓19当たりグルコースオキシダーゼ約2.300~約2.600単位、試農乾燥による酵素活性のより典型的な6%損失を仮定して乾燥試菓19当たりグルコースオキンダーゼ約8,600~約9,600単位、および試棄乾燥による酵素活性の損失がないと仮定してグルコースオキシダーゼ約9,200~約10.400単位:乾燥試菓19当たりリン酸塩緩衝液約1.3~約1.9ミリモル:乾燥試菓19当たりNATROSOLー250 M約2~約3m9および乾燥試菓19当たり入VICEL RC-591 F

特表平5-505459 (14) 得っれた混合物のpHを6.25に調整する。

工程8- 工程6の得られた無特数平がユ5の13・469 (バイオザイム(Biozyae)からの218.50単位/#9] 9.15339 を添加し、少なくとも20分間撹拌する。

工程9~ 工程8の得られた混合物にグルタミン酸カリウム20gを添加し、少なくとも20分間撹拌する。

工程 10- 100ミクロンのシーブパッグを介して、工程 9の 得られた混合物を譲過して如何なる AVICE L 塊をも除去する。 建液は得られた試業組成物であり、これを電極表面に添加し、次い で、乾燥する。

グルコース測定に関する好ましい具体例において、前記プロトコルによって作成した試験 6 μ & を切欠部 8 によって形成されたウェル9 に添加する。この試験 1 1 の量は、両電極上の表面積 1 0 を実質的に被関するであろうし(第 1 図および第 2 図)、約 2 0 秒以内で充了させるのに充分な量のペキサシアノ鉄(図)酸塩、および充分な量の、グルコース(ヒト全血の試料由来)の酸化およびペキサシアノ

約7 4 mg): 乾燥試業 1 g当たりグルタミン酸塩約7 1 ~約102 mg : なうびに乾燥試業 1 g当たりTR I TON X - 100約2 ~約3

前記のとおり、配合試棄(乾燥前)の各成分は所定の制限範囲内で変化し得る。したがって、前記の乾燥したグルコース試薬は以下の広範囲な成分を含む:乾燥試薬19当たりへキサシアノ鉄(皿)酸塩約0.55~約3.5ミリモル;試料乾燥による酵業活性の75%損失(異常に高い酵素活性の損失)を仮定して乾燥試薬19当たり約570単位を超えるグルコースオキシダーゼ;試料乾燥による酵業活性のより典型的な6%損失を仮定して乾燥試薬19当たり約2100単位を超えるグルコースオキシダーゼ;乾燥試薬19当たりりン酸塩約0.35~約2.6ミリモル;乾燥試薬19当たりNATROSOL-250M約0~約15≈9および乾燥試薬19当たりAVICELRC-591F約38~約213≈9(乾燥試薬19当たり改移結晶性物質の合計約36~約228≈9);乾燥試薬19当たりブルタミン酸塩約0~約200≈9;ならびに乾燥試薬19当たりアルタ

ON X-100約0~約18#.

乾燥後、好ましくは、ポリエステルまたはナイロンメッシュ(15) (第2回および第3回)を乾燥試業の上部に置いて、輸送および管理 中のパイオセンサーからの試薬の損失防止を促進し、試震からヒト 汚染を最小限度にするのを助ける。穴15を含む接着テーブ14に よって本発明装置にメッシュ13を貼付する(第2回および第3回)。 穴15は本発明装置によって測定されるべき分析物を含有する試料 を添加するための標的域である(第3回)。

試養を乾燥し、メッシュを貼付した後、ロール成形パイオセンサーを打抜きによって切り難し、抜パイオセンサーは、1)作用電径および対電極と電気的に連結しており、かつ作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源、ならびに2)作用電極および対電極と電気的に連結しており、かつ上記電位差が印加されると酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電流を測定することができる計量器を接続

て液体試料中の分析物の濃度を測定してよい:

- a)作用電揺および対電極の実質的に同一の表面積を実質的に被 . . 優する試養(前記)と液体試料を接触させ:
- b)分析物および酸化還元メディエーターの酸化型間の反応を完全に行わせ:
- c)次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの選元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;
 - d) その後、得られた拡散限定電流を測定し:
 - e)液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる。

多くの分析物含有液体を分析し得る。例えば、全血、血清、尿および脳脊髄液のようなヒト体液中の分析物を測定し得る。また、発酵産物中、および環境汚染物を潜在的に含有する環境物質中に見られる分析物を剥定し得る。

ヒト体液、特に全血中に見られる分析物を副定する場合、電極間 に印加された電位差は、約500ミリポルト以下であるべきである。 約500ミリポルト以上の電位差を電極間に印加すると、作用電極 して使用される。

前記計量器は、通常、電流刺動。表平 5 子 5xQ 5 多形 59kのに 適当であり、これによって分析物濃度が提供され、目に見えるよう に表示される。このような電源および計量器の改良は、同時に譲渡 された米国特許第4,963,814号(1990年10月16日発 行)、および米国特許出顧第07/451,212号(1989年1 2月15日出願:1990年11月6 許可通知発行:1990年1 1月30日登録科支払)、第07/451,108号(1988年1 2月15日出願:1990年9月24日許可通知発行:1990年 10月31日登録料支払)および第07/451,309号(198 9年12月15日出願)の対象であり、これらの記載は本明細書に 引用記載する。

電源および計量器の簡易な電気的連結のために、作用電極および 対電極の部分を暴露するさらなる切欠部(第1図~第3図)がバイオ センサー装置中に提供されるのが紆ましい。

上記パイオセンサー装置を使用して、以下の工程を行うことによっ

表面(パラジウムについて)およびいくつかの血液成分の酸化が耐えられなくなり得、これによって電流の分析物濃度との正確かつ厳格な関連が妨げる。酸化還元メディェーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(四)酸塩である場合の全血試料におけるグルコースのアッセイについて、電極間に約150ミリボルト~約500ミリボルトの電位要を印加して、作用電極の表面での酸化還元メディェーターの還元型の拡散限定電気酸化を達成してよい。好ましくは、電極間に約300ミリボルトの電位要を印加する。

酸化運元メディエーターの運元型の酸化から生じる電流は、電極 間に軽位差を印加した約0.5秒~約30秒後のいずれの時にも副 定し得る。約0.5秒未満では、拡散限定電流は達成されなかった。 約30秒後、対流が有意になり、これによって拡散限定電流の別定 を妨げられる。好ましくは、電極間に電位差を印加した約10秒後 に電流を別定し、測定された電流を試料中の分析物濃度と関連させる。

ヒト全血は料由来のグルコースの好ましい分析方法において、前

記の好ましいグルコース試薬に全血20μ0を加える。グルコース およびヘキサシアノ鉄(皿)酸塩の反応を完全に行わせ、これに(十6) てグルコン酸およびヘキサシアノ鉄(II)酸塩を形成する。この反応 は、通常、完全に行わせるのに短い時間を要し、好ましい具体例に おいては、族反応は約20秒未満で完全に行われる。全血は料の添 加の約30秒後に、電極間に約300ミリボルトの電位差を印加し、 これによって作用電極の表面でヘキサシアノ鉄(II)酸塩をヘキサシ アノ鉄(III)酸塩に酸化する。電極に豚電位差を印加した約10秒後、 電流を測定し、血液は料中のグルコースの濃度と間違させる。

試料のグルコース濃度は、本発明のパイオセンサーを使用する本 発明の方法によって正確かつ厳格に測定され得る。さらに、ヒト全 血試料を測定した場合、ヘマトクリット効果による誤差は有意では ない。

本発明の変形として、対電極が作用電極よりも小さくてよい。対 電極が作用電極よりも小さい場合、試業11に供給される酸化還元 メディエーターの酸化型の量は増加しなければならない。電流に分

エーターの還元型が触媒量の酵素(例えば、リダクターゼ)の存在下で酸化される液体試料中の分析物濃度のそんていをするために使用してもよい。分析物、酵素および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応が完了に達した後、電極間に電位差を印加する。対電極(この場合、カソードよりもむしろアノード)での酸化還元メディエーターの還元型の量および印加された電位差は、作用電極(この場合、アノードよりもむしろカソード)の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じた拡散限定電流を分析される試料中の分析物濃度と関連させる。

酸化還元メディエーターは容易に可逆できなければならず、試菓 1 1 中の酸化還元メディエーターの還元型の量は、電気還元中に生 じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の選 元によって確実に限定するのに充分でなければならない。

また、緩衝液は、酸化運元メディエーターの酸化型の運元電位よ

特表 平5-505459 (16) 折物の速度を正確に関連させるための前記必要条件が満足されなけ

ればならない:ナなわち、 特表平5-505459

1)酸化還元メディェーターの還元型の酸化速度は作用電極の表面に対する酸化還元メディェーターの還元型の拡散速度によって左右され:

2)生じた電流は作用電極の表面での酸化還元メディェーターの 還元型の酸化によって限定される

ので、試業 1 1 中の酸化還元メディエーターの酸化型の量は増加しなければならない。

例えば、対電極が作用電極の約半分の大きさである場合にヘキサンアノ鉄(皿)酸塩約2700ナノモルおよびヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩約900ナノモルの混合物(水20μ程に溶解)は前記必要条件を満足した。

また、本発明は酸化される分析物および触媒量の酵素の存在下で 還元される酸化還元メディエーターによって説明された。しかし、 本発明装置、試薬および方法は、分析物が還元され、酸化還元メディ

りも低い還元電位を有しなければならず、分析物、酵素および酸化 還元メディエーターの還元型を含む反応を抜酵素が触媒するpHを 提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量でなければならな い。これらおよび他の必要条件は還元よりもむしろ酸化される分析 物を副定するための必要条件と似ている。

当業者が本発明を製造および使用し、本発明を実施するための最 良のモードを知り、他の発明および従来の発明と本発明を区別する ことができるほど充分に明瞭かつ簡明に上記説明および図面におい て本発明を記載した。本発明の多くの変形および明白な適用は容易 に考えられるであろうし、これらは以下に請求される発明の範囲内 に含まれることを意図する。

特表平5-505459

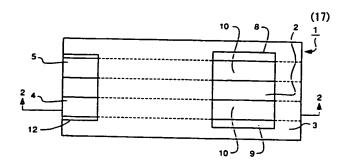


FIG. 1

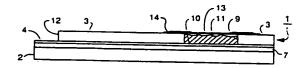


FIG. 2

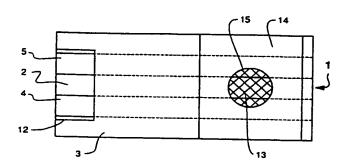


FIG. 3

安约 曹

新規パイオセンサーおよびその使用方法。族パイオセンサーは同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの作用電極および対電極を含む。

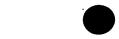
試養は作用電極および対電極の一部の実質的に等しい表面積を被 ・ 便する。 該試賞は酸化理元メディエーター、酵素、および緩衝液を 含む。

は試験に分析物含有試料を添加すると、酸化温元メディエーターが還元される(少なくとも1個の電子を受容する)かまたは酸化される(少なくとも1個の電子を供与する)かいずれかである反応において、分析物、酵素、および酸化還元メディエーターが沈設する。一般に、この反応において、分析物は酸化され、酸化還元メディエーターは還元される。この反応(ここで、分析物が酸化され、酸化還元メディエーターが還元される)が完了した後、電極間に軽位差を印加する。対電極での酸化還元メディエーターの酸化型の量および印加された電位差は、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの

還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければなっない。 短時間遅延の後、酸化還元メディエーターの還元型の電気酸化によっ て生じる電流を測定し、観察された電流は該試料中の分析物の量と 関連される。

試案が、作用電極表面での酸化還元メディェーターの還元型の酸化によって、電気酸化中に生じる電流を確実に限定するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの2つの電極が必要なだけであるのが重要である。

作用電極での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は常に作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の量を超えなければならない。



国务员主报告

CLASSIFICATION OF BURNET WATTER OF MANAGEM		PCT/US90/07374
Section of the property of the Control town to the control town to the control to the control town to the	Service Consessed and Mr.	·
IPC(5) C12Q 1/54; C12H 1/36		(1
F S CL - A3S/14 788 817		- 1
- turns structure		
Occ-	- Transley	
area comen Brooks	Constitute Service	
U.S. CL. 435/14.258.617		
		4100
Service - Comment of Our princes, 11 and management above a		* Court to Court to
		2.5. 0- 12.14.15.
	US. A. 4.959.305 (Voodrum) 25 September 1990, see entire document.	
		39.46.50-52. 54.57
T US. A. 4.830.959 (McNeil et a	1.)	
: 16 May 1989, see entire docum	ent.	1-57
		: "
Y US. A. 4,758.323 (Davis et al	US. A. 4,758.323 (Davis et al.)	
19 July 1988, see entire docu	ment.	1-57
•		
 		;
T US. A. 4,224,125 (Nakamura et	el.)	;
23 September 1980, see entire	document.	:1-57
;		
		i
•		
•		
1		
ì		
•		
* Souther Associates of Franciscopy Company 14		
"4" description of many the particular represents to the last works of the		
Consequence to to of puricus statutory		
	all designated of desireday	
"." Badamani arinch man moram papatis da proprin classess de minich de casa sa passapinon man productivam pass of program patriches arinches and productivaments.		
		to compare the district analysis of the control of
-C. Service spine a to the between the tradeous to		
"F" SECURIOR SUBMINISH STOP TO THE INTERNATIONAL RANGE SAND BASE		
	A, serven winds at a	بشمية سينين يمين
V. CERTWICATION		
Date of the Address Commence of the International Security 1	. Come of Statutes of State Spring	strant, gidini grassı ,
	184	VPR 1991
24 Merch 1991		
International Branching Authority 1	S	
	- Waan	ck
SA/US	Janelle D. Wmack	

- GO LUCKS (SAGES FAIGS COR.	THUCO FACE THE SECOND SHEFT
Ī	
İ	特表平5-505459
ı	1.7.2.1.0.0.0.4.0.1
!	
1	
i	_
i	;
•	
į	
i	!
Į.	
i	į
-	
_=	CIEAVE CIVER ALUI LORNO ANGIVECHVOIT.
	nor how assistance on reaport of earson cluster under Article 17(2) (at to one because reason
	or they refers to exclused matter? Her reduced by the property by they Australia, replicity;
1 Cum ~~~~	or their region of party of the anterrept against the day not opened, when the processed to
	a maternalist representational absolute data per descent arts of referentials.
: - Open	ال التعليمة وما والم والمالية
PCT Russ & Asia	
MCT flow & man on (2) deservations weeks	ABILA OL MAKELIMB IS FVCHIMB;
MCT Run & con MCS DESERVATIONS WHERE The International September Against	MOULAL OA MAKELLIGE IS FOCKING;
MCT flow 6 flost vi (3) descrive avious whereis The international Sourching Author L. Process and appa	werry or myteries is tacking!
vi (3) deservations weeks The interested features autom I. Process and appa by a biosensor,	very or sevention is Lacture! These select description in the sevention of detection of an analytical class 1510 of the classified in class 1510 subclass 288 (classe) 1-15.
The memoral forcing Autom I. Process and appa by a biosensor, 24-33 and 36-57;	usery or seventees is Lacones! Total nodes outside in the serverse sevents in these; ratus for performing process of detection of an ana; classified in class &35, subclass 288 (claims 1-15,
MCT for a can w (3 deserva rooms weeke The immension feeting added I. Process and appa by a biosensor, 24-33 and 36-57; II. A reagent classi (claims 16-23, 3	usity or severations is LACKESS! The service and the service and the service are assets as the service are assets as the service are assets as the service are as a service as the service are as a service as a ser
MCT for a can w (3 deserva rooms weeke The immension feeting added I. Process and appa by a biosensor, 24-33 and 36-57; II. A reagent classi (claims 16-23, 3	usity or severations is LACKESS! The service and the service and the service are assets as the service are assets as the service are assets as the service are as a service as the service are as a service as a ser
or C days a man or C deservations whereas I. Process and appa by a biosensor, 24-33 and 30-57; II. A reagent class; (claims 16-23, 3	warry or seventees is LACKING! ratus for performing process of detection of an analosastication class 455, subclass 228 (claims 1-15, fied in class 455, subclass 14 A and 35).
FCT Sour 6 man I GESSENVATIONS STREET I. Process and appara by a biosensors. 24-33 and 36-57: II. A reagent class (claims 16-23, 3	warry or seventees is LACKING! ratus for performing process of detection of an analosastication class 455, subclass 228 (claims 1-15, fied in class 455, subclass 14 A and 35).
or C flow 6 man or C destroy a vision sweeces I. Process and appara by a biosensors. 24-33 and 36-57: II. A reagent class (claims 16-23, 3	very or seventees to the seventees of detection of en englished for performing process of detection of en englished field in class 435, subclass 288 (claims 1-15, iffed in class 435, subclass 14 M end 35).
CT flore 6 mail **C States** A more sweete **To impression benching a steps 1. Process and appa by a biosensor. 24-33 and 30-57: II. A reagent clease; **Claims 16-23, 3 **C and some different claims 16-24, 3 **A reagen states are seen. **A reagen of the impression of the	werry or seventume is tacking? In these cases of memory in the intermediate and these; If these cases for performing process of detection of an analogastic for in class 435, subclass 288 (claims 1-15, fied in class 435. subclass 14 As and 331. The memory may be the contents, the expension of course many at sections in the contents of the course
TOT have a mail to the control of th	very or seventees to the seventees of detection of en englished for performing process of detection of en englished field in class 435, subclass 288 (claims 1-15, iffed in class 435, subclass 14 M end 35).
TOT have a mail to the control of th	warry or severence is LACKING! Tratus for performing process of detection of an analogue state of the control
To There and To Secretary Training search The International Secretary Author I. Process and appa by a biosensor, 24-33 and 30-57; II. A reagent cleans; Claims 16-23, 3 A set described and search A part of the search A part of the search To the search of the search To the search of the search To the search of the search The search of the search of the search The search of the search of the search The search of the searc	werry or severations is Lacksing! These selects consensed in the internations of these; Facture for performing process of detection of an enter Classified in class 435, subclass 288 (claims 1-15, fied in class 435, subclass 14 A and 35). The contents are the contents the international contents are the contents of the contents
TOT have a mail to the control of th	werry or severations is Lacksing! These selects consensed in the internations of these; Facture for performing process of detection of an enter Classified in class 435, subclass 288 (claims 1-15, fied in class 435, subclass 14 A and 35). The contents are the contents the international contents are the contents of the contents
To There and To Secretary Training search The International Secretary Author I. Process and appa by a biosensor, 24-33 and 30-57; II. A reagent cleans; Claims 16-23, 3 A set described and search A part of the search A part of the search To the search of the search To the search of the search To the search of the search The search of the search of the search The search of the search of the search The search of the searc	werry or severations is Lacksing! These selects consensed in the internations of these; Facture for performing process of detection of an enter Classified in class 435, subclass 288 (claims 1-15, fied in class 435, subclass 14 A and 35). The contents are the contents the international contents are the contents of the contents
To There and **G Setting a Thomas severe The immensional Secretary a agree 1. Process and appa by a binacesor. 24-33 and 30-57: II. A reagent clears **Claims 16-23, 3 **G And secretary definition of the controlled **Date of the controlled **Da	werry or severations is Lacksing! These selects consensed in the internations of these; Facture for performing process of detection of an enter Classified in class 435, subclass 288 (claims 1-15, fied in class 435, subclass 14 A and 35). The contents are the contents the international contents are the contents of the contents
CT Rose and C designs a move sweete The immensional Secretary author Process and appa by a biosensor. II. A reagent clears III. A reagent clears Claims 16-23, 3 A set of secretary defined and apparent clears A reagent clears A reagent clears To A reagent clears A reagent	WHITTY OF PRIVENTING IS LACKERS! TO THE STATE OF THE PRIVENT AND THE STATE OF THE

第1頁の統	÷	
-------	---	--

Sint. Cl. 4	識別記号	庁内整理番号		
G 01 N 27/28 27/416	331 Z	7235-2 J		
// C 12 M 1/34 C 12 Q 1/00 1/26 1/54	E B	7229-4B 6807-4B 6807-4B 6807-4B 7235-2 J	G 01 N 27/46	336 Z

⑦発 明 者 オウクス,エム・ルーアン アメリカ合衆国46234インデイアナ州、インデイアナポリス、チャ ベル・パインズ・ドライブ8510番 @発明者 コスト, ケント・エム アメリカ合衆国46038インデイアナ州、フィッシャーズ、アシュリ イ・プレイス11229番 @発明者 ベイトソン、ジョウジフ・イー アメリカ合衆国46038インディアナ州、フィッシャーズ、イース ト・ナインテイエイス・ストリート6380番 @発明者 ウオーリング, ビー・ダグラス アメリカ合衆国46256インデイアナ州、インデイアナポリス、シー ブリーズ・ウエイ10216番 ⑦発 明 者 ポールマン, クラウス・ハー ドイツ連邦共和国デーー6823ノイルスハイム、エルフルター・ヴェ ーク1番

```
【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載
【部門区分】第6部門第1区分
【発行日】平成9年(1997)10月14日
```

【公表番号】特表平5—505459 【公表日】平成5年(1993)8月12日 【年通号数】 【出願番号】特願平3—502803 【国際特許分類第6版】

GO1N 27/327 27/28 331 27/416 // C12M 1/34 C12Q 1/00 1/26 1/54

[FI]
G01N 27/30 353 R 0275-2J
27/28 331 Z 0275-2J
C12M 1/34 E 7804-4B
C12Q 1/00 B 7823-4B
1/26 7823-4B

1/26 7823-4B 1/26 7823-4B 1/54 7823-4B GO1N 27/30 353 F 0275-2J 27/46 336 Z 0275-2J

手続補正書

接许尔英安的

1. 事件の表示

平成03年特許根据5028C3号



1. ME

事件との関係 特許出版人

名称 ペーリンボー・マンハイム・コーポレイション

3. 代基人

性所 〒540 米型が大型ボウルド 東京 1 丁R3番7号 IMPドル 東 日 中子 3 本語的 東 12 (05) 349-1251 FAX (05) 349-0451

氏名 非藩士 (6214) 音·山 存



4. 雑形の会の当件

白兒(出版等在財水と同時)

5. 雑型の対象

明経者の新用



(7) 第25頁第5行~第26頁第1行

「したがって、・・・・約18時。」とあるを、

「したがって、乾燥以幕(試象の水分の少なくとも80%が除去されている) における各成分の誰の散鉱範囲は、上述の好ましい製剤の範囲より広い。」と結 正します。

B. 請求の私居 別紙の通り。

6. 特正の内容

A. 明顯書

(1) 第1頁第2行

「新規パイオセンサーおよびその使用方法!とあるを、

「般化理元メディエーターおよびパイオセンサー」と結正します。

(2) 始至東第2行

「酸化理元ノ」ともるも、「酸化量元メディエーター」と他正します。

(3) 常し5買第12行

「国際単位(単位)」とあるも、「単位」と特定します。

(4) 第18頁第1行

・「カルポキシメチルセルロース」とあるを、

『ヒドロキシメチルセルロ・ス』と補止します。

(5) 第1 9页第1 51/~第2 0页第7行

「(例えば、・・・・装石液)」とあるそ、

i(例えば、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)-2-イミドニが酸、ピペラジン-N, N'-ピス(2-エタンスルホン酸)、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸、N, N-ピス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-3-ブミノエタンスルホン酸、およびN-2-ヒドロキシエチル-ピペラジン N'·2 エタンスルホン酸、およびトリス器療施(2-アミノー2(ヒドロキンメチル)-1、3-プロパンジオールから誘導された緩衝検()」」と始近します。

(6) 第24寅第6寅~第25寅第3行

「乾燥杖薬・・・・約~mg。」とあるを、

『乾燥試薬』。当たりヘキサシアノ鉄(ロ)酸塩約0.8~約1.0ミリモル: 鉄 裏乾燥による酵素活性7.5%徴失(異常に高い酵素活性徴失)を仮定して乾燥成率 1g当たりダルコ・スオキシダ・ゼ約1.300~約1.703単位、試薬乾燥に よる発素活性のより鉄型的な8%損失を仮定して乾燥試蔵1g当たりダルコース

新水の製田

- 1. a. 第1電気絶縁体;
- b. 同一の専選性特質から作られ、かつ第1電気格線体上に支持されている変 質的に同一の大きさの作用電響<u>もよび、参照電極でない</u>対電極:
- c. 第1電気絶象体および電極に上限りし、かつ作用電機および対電極の実質 的に等しい表面数を毎度する初欠部を含む第2電気絶縁体;ならびに
- i. 以欠部において暴無される戦域表面を実質的に参照し、かつ酸化起元メディ エーターの酸化型、酸素および細胞核からなる試解からなり。

散豫化基元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化基元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分セタイプであり、かつ拡散限定性気酸化によって生じる電流を作用電極表面での酸化基元メディエーターの還元型の酸化によって確実に規定するのに充分な量であり、

設備素が営業、分析物および酸化感元メディエーターの酸化型を含む反応を触 鍵するのに充分なタイプおよび充分は象であり、

装舗装が能化速元メディエーターの適元利よりも高い酸化素位を有し、かつ 酵素、分析物、および酸化速元メディエ・ターの酸化型を合む反応を酵素が触媒 するpHを提供し契持するのに充分なタイプおよび支分な量であることを特徴と する分析物分析装置。

- 2. は楽がさらに、は楽中で酸化超元メディエーターを分散させるのに充分な タイプおよび充分な量の微結品性物質からなる語水項」記載の活置。
- 3. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディスーチーからなるは水項1記載の装置。
- 4. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、銀、チタン、 網および以来からなる器から選択される禁束項1 犯数の値匹。
- 5. は集がさらに、分析物を含有する試料を起摘させるのに充分なタイプおよび充分な量の異面活性剤からなる消水項2記載の装置。
- 6. 試象がさらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび先分な量の試際 安定制からなる路交項5 配戦の装置。

- 1、分析物がグルコースであり、砂化道元メディエーターの酸化型がヘキサシ アノ鉄(11)登場であり、啓索がグルコースオキシダーゼである雑求項1配業の数
- 8. 分析物がグルコースであり、彼化型元メディエーターの酸化型がヘキサシ アノ鉄(豆)酸塩であり、耐味がゲルコースオキシダーゼである館水項2記録の数
- 分析物がグルコースであり、硬化運光メディエーターの酸化型がヘキサシ アノ鉄(E)隆塩であり、銀面放がリン政塩であり、象約品性物質が最結晶性セル ロースおよび微結品性<u>にドロキン</u>メチルセルロースを含み、降本がグルコースオ キシダーゼであり、昇面活性紙がノニオン界面活性制であり、試薬安定期がグル タミン敵塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから なる野から選択される精水項6記載の装置。
- 10. 4. 第1 電気絶縁体;
- b. パラジウムから作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一 の大きさの作用電極。および、参照電話でなり対電器:
- c. 第1電気絶縁体および電視に上続りし、かつ作用電流および対電板の主管 的に等しい表面積を基備する切欠部を含む第2個鉄絶量は:ならびに
- d. 別欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ
 - 1) **以**祭1g当たりヘキサシアノ飲(M)政塩的<u>(0.8</u>~約<u>1.0</u>ミリモル、
 - 2) 試売1g当たりリン雑塩経街旋約<u>1,0</u>~約<u>1,3</u>ミリモル、
- 3) 試施1g当たりグルコースオキシダーゼ約<u>1.300</u>~約<u>8.800</u>単
- 4) 私乗1g当たり役む品任セルロース約38~約48m。
- 5) 試薬1g当たり微粒品性<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロース約<u>1.6</u>~約<u>2.</u> 1 17.
- 6) 政第1g当たりTRITON X-100約<u>1.3</u>~約<u>1.7</u>mg、および
- 7) 試薬 1e当たりグルタミン陸塩約 0.3~約 0.4ミリモル

からなる試革

ーターの験化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイ プであり、かつは教験定電気酸化によって生じる電流を作用電暴表面での酸化剤 元メディエーターの表元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

数要素が特素、分析物、および酸化速元メディエーターの酸化型を含む反応も 触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

放棄衝流が酸化電元メディエーターの電元型よりも高い酸化電位を有し、かつ 鬱素、分析物、および微化還元メディエーターの酸化型を含む反応を尋素が触媒 するp日を観代し載荷するのに充分なタイプおよび充分な様である

ことを特徴とする、作用電極、および、多照地極でない対電極を存し、かつ分析 物を創定する衝気化学的は何のための試象。

- 1.5. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる際常名よびさらなる酸化療法 メディエークーからなる脐水項<u>!4</u>配度の試集。
- <u>15</u>. さらに、試集中で酸化速元/アィエーターを分散させるのに充分なタイ プロよび充分な量の微能晶性物質からなる効水項<u>14</u>位戦の試象。
- 17. さらに、分析物含有試料を設備させるのに充分なタイプおよび充分な量 の界面活性剤からなる糖水疾1.6 記載の試薬。
- 18. さらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試案安定 別からなる諸求項<u>1.7</u>記載の試器。
- 19.分析物がグルコースであり、酸化基元メディエーターの酸化型がヘキサ シアノ鉄(皿)破略であり、製街液がリン酸塩であり、微粘温性快質が微結品性セ ルロースおよび散結品性とドロキシメチルセルロースを含み、貯事がグルコース オキシダーゼであり、昇面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグ ルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースか らなる男から選択される蔚水項<u>18</u>記載の試集。
- 2.0. a. 試祭1g当たりヘキサシアノ鉄(四)破塩的D. 8~約1.0ミリモ A:
- b. 試棄 } e当たりリン取塩機衡液約<u>1,0</u>~約<u>1.3</u>ミリモル、
- c. 私典 1g当たりグルコースオキシダーゼ約<u>1,300</u>~約6<u>,800</u>単位;

からなそことを特徴とするグルコース分析装置。

11. 86E.

- e、作用環保および対域核と低低的に連続され、作用電視の表面で終化表示す ディエーターの最元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電池 および対電極間に供給することができる電車:ならびに
- 1. 作用電優および対電極と電気的に連絡し、作用電極表面での数化違元メディ エーターの違元型の硬化によって生じる拡散限定電波を測定することができる計 量器

からなる確認項1日間の装置。

12. 865.

- 作用電視および対電極と電気的に連結され、作用電極の表面で軟化過光メ ディエーターの還元型の拡放程定電気酸化を生じるのに完分な電位性を作用電極 および対電域間に供給することかできる位置:ならびに
- f. 作用電腦および対電腦と問気的に連結し、作用電腦表面での酸化量元メディ エーターの超元型の酸化によって生じる拡散限定電波を創定することができる計 ₽器

からなる請求項で記載の繁置。

- 13. 第2年気絶縁体がさらに作用電視および対電極の一部を暴露するとらな る切欠部を含み、装置がさらに、
- e、さらなど切欠部で作用組織および対策値と電気的に連結され、かつ作用電 後の表面で簡化温元メディエーターの超元取の拡散限定常知酸化を生じるのに充 分な電位差を作用電板および対電板間に供給することができる電源;ならびに
- 1. 作用電振および対電極と電気的に連結し、作用電探表面での酸化超元メディ エーターの還元草の酸化によって生じる拡散限定能液を測定することができる計 景天

からなる請求項10記載の装置。

1.4. 酸化理元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなり、 該際化速元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化差元メディエ

d. 試業1g当たり数結品性セルロース約<u>38</u>~約<u>48</u>mg;

- e. 試案 1g間たり微結品性<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロース的<u>1、6</u>~的<u>2、1</u> pp
- f、 試集1g当たりTRITON X-10 6約1,3~約1,7m;および g. 試象 1g当たりプルタミン番塩的<u>0,8</u>~約<u>0,4ミリモル</u>
- からなることを特徴とする、作用電池<u>、および、参照電機でない</u>対電船を有し、 かつグルコースを測定する電気化学的装配のための試束。
- 21. a. 作用電腦、および、多照電腦でない対電腦の実質的に等しい表面 概を被覆し、かつ酸化型元メディエーターの酸化型、酵素、および最初液を含む 就是と液体を接触させ

【ここで、酸化調元メディエ・タ・の酸化型は酵素、分析物、および酸化減元メ ディエーターの液化型を含む技能から少なくともし何の電子を受容するのに充分 なタイプであり、かつ拡散設定和気酸化によって生じた電流を作用電極表面での 酸化基元メディエーターの違元虚の酸化によって修実に限定するのに充分な量で あり、

執射索は酵素、分析物、および酸化混元メディエーターの酸化型を含む反応を 触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該級衝液に酸化료元メディエーターの超元型よりも高い液化電位を有し、かつ 存実、分析物、および放化量デメディエーターの時化型を含む反応を確認が解析 するpllを提供し軽性するのに充分なテイブおよび充分な量である] ;

- h. 政節素、分析物、および被化理元メディエーターの悪化型を含む反応を急 Tett:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化速元メディエーターの最元型の拡鉛取合金 気酸化を生じるのに充分な電位差を延軽間に印加し;
 - d. その後、生じる拡散限定型銃を制定し:
 - e. 放体中の分析物の適度と電流器定能を軌道させる

工程からなることを特徴とする旅化中の分析物識度認定方法。

<u>17</u>. 試験がおらに、少なくとも1つのさらなる労業およびさらなる般化選元

メディエ・ターを含む技术項31配数の方法。

1.3. 試薬がさらに、試薬中で強化産元メディエーターを分散させるのに充分なダインおよび充分な量の凝結品性物質を含む請求項2.1 記載の方法。

まも、球器がさらに、

試察を失定させるのに*充分なタイプねよび充分な*強の試案安定所を含む音楽模 2 3 記載の方法。

- 2.5. 分析物がゲルコースであり、酸化辺元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(口)酸塩であり、酸物酸がリン酸塩であり、酸物品性物質が酸結晶性セルロースおよび電酵品性セドロキシメチルセルロースも含み、酵素がゲルコースオキシゲーゼであり、昇頭医性剤がノニオン界面高性剤であり、試薬安定剤がゲルケミン酸塩、アスパラギン酸塩、プルーデキストラン、およびトレハロースからなる部から選択される請求項21匹能の方法。
- 2.6. た用電極<u>、および、非常軟体でない</u>対電極の実質的に等しい表面 競を被覆し、かつ

武第 1 p当たりヘキサシアノ鉄(EE)酸塩約<u>0.9</u>~約<u>1.0</u>ミリモル、

試薬 lg当たりリン酸塩級製放約<u>1.0</u>~約<u>1.3</u>ミリモル、

試集 1g当たりグルコースオキシダービ約<u>1,800</u>~的<u>6,800</u>単位、

試職し9当たり撤給品性セルロース的38~約48四、

以来10当たり微結品性<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロース約<u>1.6</u>~約<u>2.1</u> wg、および

試際 1 g当たりグルタミン兼塩約 0,3 - 約 0,4 ミリモル を含む試慮と液体を体験させ:

- b. 酵素、分析物、および酸化塩デメディエーターの酸化却を含む反応を完了 きせ:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化量元メディエーターの最元型の拡散限定電 気動化を生じるのに充分な取位差を配価間に印加し;
- e、作用電極および対電医と電気的に連結され、作用電極の表面で重化電元メディエーターの酸化型の拡散限定電気運元を生じるのに乗分な電位美を作用電極 および対電極間に供給することができる素質;ならびに
- 4. 作用電極および対電線と電気的に連結し、作用電報表面での酸化型元メディエーターの酸化型の量元によって生じる拡散限定報流を創定することができる計量器

からなる請求項<u>27</u>記載の装置。

3.0. 段化ポ元メディエーターの道元型、啓素、および鉄衡液からなり、 鉄酸化速元メディエーターの週元型が辞集、分析物、および酸化速元メディエ ーターの道元型を含む収応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ試験協定域気度化によって生じる電波を作用電電波面での硬化減 元メディエーターの酸化型の過元によって確実に限定するのに充分な量であり、

放酵素が除来、分析物、および酸化度元メディエーナーの違元等を含む反応を 触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

就便衡度が發化電元メディエーターの設化型よりも低い超元尾位を行し、かつ 酵素、分析物、および酸化速元メディエーターの超元型を含む反応を除席が触過 するpII を提供し続持するのに充分なテイプおよび充分な量である

ことを特徴とする、作用電極<u></u>および<u>参照電価でない</u>対電極を有し、かつ分析 物を測定する電気化学的装置のための試集。

31. + 6c.

試料中で最化端元メディエーターを分散させるのに充分なりイブおよび充分な 是の単結品性協関;

分析物合有試料を週間させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤; および

試幕を安定させるのに完分なタイプおよび充分な量の以系安定額からなる額水 項 3 0 に載の記載。

32. a. 作用領権、および、参照管施でない対電機の変質的に参しい表面 概を被覆し、かつ酸化速元メディエーターの還元型、研索、および成物液を含む

- d. その後、生じる拡散程定電流を配定し;
- e. 液体中のグルコースの速度を環境固定値に関連させる

工程からなることを特徴とする液体中のグルコース急症難定方法。

27. 8. 第1電気能線件:

- b. 同一の考電性物質から作られ、かつ前 | 電気能縁体上で支持される突質的 に同一の大きさの作用電極」および<u>・参照可極でない</u>対電極:
- c. 第;電気絶解体および電極に上続りし、かつ作用管理および対電電の実質 的に尋しい表面相を暴露する切欠相毛含む第2電気能操体;および
- d. 列久部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ製化剤元メディ エーターの道元型、保承、および数響度からなる試薬からなり、

蔵鉄化電元メディエーターの温元数が酵素、分析物、および酸化超元メディエ ーターの遅元型を含む反応から少なくとも1億の電子を供与するのに充分なタイ プであり、かつ拡散限定電気電気によって生じる電波を作用電極表面での酸化量 元メディエーターの酸化型の過元によって確実に限定するのに充分な量であり、

数滑索が劈索、分析物、および敏化速元メディエーターの避元型を含む反応を 触媒するのに充分なクイブおよび大分な量であり、

装調衝波が酸化返元メディエーターの酸化物よりも低い週元磁位を有し、かつ 酵素、分析物、および酸化週元メディエーターの週元型を含む反応を解放が破壊 するpHを提供し機械するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴と する分析物分析用格量。

28. 20本がさらに、

鉄原中で象化組元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 墨の森結晶性特徴、

分析物合有試料を設備させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、 および

試験を安定させるのに充分なタイプなよび充分な量の試験安定剤からなる館域 項<u>2.7</u>記載の装置。

<u> 29</u>. きらに、

以来と液体を接触させ

【ここで、酸化選元メディエーターの選元型は酵素、分析物、および酸化選元メディエーターの選元技を含む収応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ試験設定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化選売メディエーターの酸化室の雇元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該併業は持禁、分析物、および酸化道元メディエーターの超元型を含む反応を 触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

は観測減は取化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元型位を有し、かつ 酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触誤 するpIを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である]:

- b. 政務未、分析物、および酸化還元メディエ・ターの還元型も合む反応も完 「させ:
- c. 次いで、作用電磁の表面で酸化電元メディエーターの酸化原の拡散限定電 気電元を生じるのに充分な電位差を配補間に自加し。
 - d. その後、年じる拡散程定電流を設定し;
- e、液体中の分析物の薬皮と常純類比値を関連させる

工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

33. 試薬がさらに、

以重いで除化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 量の数格晶性物質、

分析物含有は料を雇潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の排**過**話性剤、 および

は草を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量のは東安定領を含む静水項 3.2 に載の方法。

84. 4. 第1電気格器体;

b. 同一の導領社物質から作られ、かつ第1階域絶縁体上で支持されている作用環報をよび設作用電響よりも小さく、<u>倉間電視でない</u>対電極(

- c. 放第1種気能療体および放電壁に上塗りし、作用電極よりも小さい対路極 の表面数を長潤する切欠部を含む第2種気能線体: および
- d. や炊物において暴露された着無盗頭を突到的に被覆し、かつ機化過元メディエーターの限化型、砕素、および試過液からなる試験からなる。

新聞化型元メディエーターの酸化型が傳承、分析物、および酸化型元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも「個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡張限定地気酸化によって生じる電道を作用電低調査での酸化型元メディエーターの過元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

「妖政者が原案、分析物および酸化速光メディエーターの酸化型を含む反応を施 集するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

製器動機が鍵化器元メディエーターの湿光型よりも高い酸化器点を有し、かつ 即業、分析物、および酸化器元メディエ・ターの酸化型を含む反応を酵素が勉強 するpH を提供し程得するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴と する分析物分析能限。

- 3.5. 試集がさらに、試禁中で酸化速元メディエーケーを分散させるのに充分 なタイプおよび先分な量の磁時品性物質からなる請求項3.4 記載の整理。
- 3 6. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化違元 メディエーターからなる効果項<u>3</u> 4記載の装置。
- 3.7. 作用電極および対電機の導像性物質かパラジウム、白土、土、線、チタン、線、および資素からなる器から選択される確求項3.4 記憶の装置。
- 38. 製薬がさらに、分析物含有試料を提開させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる結束項35記載の装置。
- 39. 試護がおらに、試験を安定化させるのに充分なりイブおよび充分な量の 試悪否定制からなる対象項<u>38</u>匠数の製造。
- 40. 分析物がグルコースであり、酸化超元メディエーターの酸化超がヘキヤンアノ鉄(軍)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項34配数の物理。

するp日を提供し軽待するのに充分なタイプおよび充分な量である】;

- b. 政務本、分析物、および敬化返元メディエーターの酸化型を含む反応を充 了させ:
- c. 次いて、作用電極の表面で酸化葱元メディエーターの過元型の拡散限定電 気酸化を生じるのに 化分な場位券を解検器に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を確定し;
- e. 液体中の分析物の適度と電視測定値を興達させる

工程からなることを特徴とする液体中の分析物温度超定方法。

- 4.5. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディエーターを含む薄求項14元数の方法。
- 4_6. 就媒がさらに、試算中で数化速元メディエーターも分散させるのに充分 なタイプもよび充分な母の機結系性物質を含む結束項4_4 配験の方法。
- 47、試塞がきちに、

試験との試験によって液体を過減させるのに充分なタイプおよび支分な量の界 面積色料、および

は基を安定させるのに定分なケイブおよび充分な無の試薬公定剤を含む請求項 4.8記載の方法。

- 48. 分析物がグルコースであり、酸化通元メディエーターの健化型がヘキサレアノ鉄(四)酸塩であり、酸制酸性物質が酸結晶性セルロースおよび酸粧晶件<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面所性剤がノニオン界面活性剤であり、以際安定剤がケルクミン酸塩、アスパラギン装塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる剤から選択される防水模<u>(7</u>配鉱の方法。
- <u>19</u>. a. 密 I 磁気動軟体;
- b. 周一の堪電供物質から作られ、かつ急1電気絶異体上で支持される作用電 概、および、数作用電極よりも小さい、参照電<u>様でない</u>対電艦;
- c. 第1 省気絶縁体および電磁に上陸りし、かつ作用電報よりも小さい対電極 の表面積を轟奪する切欠部を含む第2 電気絶縁体:および

- 4.1. 分析物がグルコースであり、酸化塩元メディエーターの激化がケルキサシアノ鉄(川)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである健軟項<u>8.5</u>配業の設定。
- 4.2. 分析物がグルコースであり、酸化環元メディエーターの酸化酸がヘキサシアノ快(ロ)酸塩であり、透射波がリン酸塩であり、微筋晶性硬性が酸結晶性セルロースおよび酸枯品性<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロースを含み、四素がグルコース オキシダー ぜであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、以塞安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーグキストラン、およびトレハロースからなる許から選択される体束項<u>3.5</u>亿松の袋筐。

43. 366.

- e. 作用電極および対電極と電気的に適結され、かつ作用電極の表面で酸化速 元メディエーターの遠光型の拡散環定電気酸化を応じるのに充分な電位差を作用 電極および対電範囲に供給することができる電数;および
- f. 作用電極および対域係と電気的に連結し、かつ作用電極表面での酸化速元メディエーターの超示率の酸化によって生じる拡散限定電流を測定することができる計算器

からなる情収項34足数の装置。

4. a. 作用電極よりも小さい欠電極の変面限を被覆し、かつ酸化量元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液を含む試薬と放体を検熱させ

[ここで、酸化電元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化電元メディエーターの酸化型を含む反比から少なくとも1個の電子を受害するのに充分なタイプでもり、かつは放展定電気酸化によって生じた電波を作用電極波面での酸化量元メディエーターの超元質の酸化によって確実に限定するのに実分な量であり、

該薪業は対策、分析物、および酸化速元メディエーターの酸化型を含む反応を 鼓場するのに充分なタイプおよび充分な着であり、

製造板被は強化差元メディエーターの超元型よりも高い酸化酸症を有し、かつ 研索、分析物、および酸化素元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒

d. 切欠部において暴露される電極波面を突慢的に被覆し、かつ酸化避元メディ エーターの延元型、降水、および最衝波からなる試影からなり、

族酸化基元メディエーターの選売型が酵素、分析的、および酸化基元メディエーターの基元型を含む反応から少なくとも (個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ体数限定電気選売によって生じる電流を作用電電表面での酸化速元メディエーターの酸化剤の基元によって確実に限定するのに充分な量であり、

装削素が酵素、分析物、および微化速元型メディエーターの差元型を含む反応 を連続するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

被数面核が酸化量元メディエーターの酸化物よりも低い基元素位を有し、かつ 翻索、分析物、および酸化理元メディエーターの電元型を含む反応を開業が抽場 するp日を提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴と する分析物のが必要。

50. 試集がさらに、

は集中で酸化塩元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 量の象納品生物質、

分析物含有铁料を起鍵させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面析性剤、 および

試集を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の成果安定剤からなる請求 項<u>4 9</u> 記載の装置。

<u>51</u>. おらに、

- e. 作用電信および対電機と確認的に連結され、かつ作用電腦の接向で使化量 元ノディエーナーの酸化型の佐設限定位気温元を生じるのに定分な端位差を作用 機能および対電偏端に供給することができる機械;および
- 1. 作用電極および対策権と取扱的に連結し、作用電極表面での機化量元メディ エーターの酸化型の遅元によって生じる監管規定電流を創定することができる計 最終

からなる請求項<u>4.9</u>記載の採用。

5.2. a. 作用電視よりも小さい<u>。参照電極でない</u>対電視の表面観を被覆し、

かつ酸化速元メディエーターの違元率、研究、および緩衝波を含む試避と強体を 接触させ

【ここで、酸化基元メディエーターの還元型は野禽、分析物、および酸化塩元メディエーターの電元型を含む反応から少なくとも1個の電子を使らするのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気量元によって生じる電流を作用電極接近での酸化環元メディエーターの酸化型の違元によって確実に限定するのに充分な量であり。

該郡本は郡本、分許物、および酸化混元メディエーターの運元型を含む設此を ・ 始謀するのに充分な量であり、

数疑制放は酸化類元メディエーターの酸化型よりも低い超元單位を有し、かつ 時末、分析物、および酸化氮元メディエーターの量元型を含む反応を密索が動態 するpHを提供し軽許するのに充分なタイプをよび充分な量である);

- b. 矮野珠、分析物、わよび酸化速元メディエ・ターの最元型を含む反応を完 了させ:
- c. 次いで、作用電便の表版で数化速元メディエーターの酸化域の拡散銀定電 気速元を生じるのに充分な電位売を電極間に印加し;
- d. その後、生じる社教限定電流を創定し;
- e、政体中の分析物の最近と電抗制定値を関連させる

工程からなる故体中の分析物器皮御能方法。

5.1, ₩₩# 6 6 € .

減級中で酸化電元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 最の機結晶性物質、

減処と接触させることによって液体を収測させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性料、および

試料を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試異安定剤からなる請求 項5.2 記載の方法。

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

□ BLACK BORDERS
□ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
□ FADED TEXT OR DRAWING
□ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
□ SKEWED/SLANTED IMAGES
□ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
□ GRAY SCALE DOCUMENTS
□ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
□ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.